

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) **公開特許公報 (A)**

(11)特許出願公開番号

特開平7-330794

(43)公開日 平成7年(1995)12月19日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	府内整理番号	F I	技術表示箇所
C 07 K 14/415		8318-4H		
A 23 L 3/3526	501			
C 12 N 9/99				

審査請求 未請求 請求項の数4 FD (全3頁)

(21)出願番号 特願平6-146983

(22)出願日 平成6年(1994)6月7日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成6年4月1日～
4月4日 社団法人日本農芸化学会主催の「日本農芸化
学会 1994年度大会」において文書をもって発表

(71)出願人	000162412 協同乳業株式会社 東京都中央区日本橋小網町17番2号
(72)発明者	谷 久典 東京都福生市本町31-22 リバーハウス 203
(72)発明者	大石 一二三 東京都練馬区関町東1-26-7-303
(72)発明者	渡辺 乾二 愛知県名古屋市緑区桃山三丁目601番地
(74)代理人	弁理士 石山 博 (外1名)

(54)【発明の名称】 小麦由来リバーゼインヒビター

(57)【要約】

【目的】 小麦由来蛋白質性新規リバーゼインヒビター
に関する。

【構成】 哺乳類腸管由来リバーゼを特異的に阻害する
ことを特徴とする小麦由来リバーゼインヒビター。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 哺乳類腸管由来リバーゼを特異的に阻害することを特徴とする小麦由来リバーゼインヒビター。

【請求項2】 分子量が25,000、等電点が7.1及び6.9付近で、N末端からの残基のアミノ酸配列が、Arg-Ser-Ala-His-Glu-Pro-Gln-Gln-Proであることを特徴とする請求項1記載の小麦由来リバーゼインヒビター。

【請求項3】 分子量が28,000、等電点が6.7付近で、N末端からの残基のアミノ酸配列が、Arg-Ala-His-Glu-Glu-Gln-Gln-Hisであることを特徴とする請求項1記載の小麦由来リバーゼインヒビター。

【請求項4】 pH 3から7及び60°C並びに80°Cで60分間の加熱で安定な、約 1.229×10^{-4} MのKm値を有する請求項1, 2及び3のいずれかに記載の小麦由来リバーゼインヒビター。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 この発明は小麦由来蛋白質性新規リバーゼインヒビターに関する。

【0002】

【従来の技術】 従来、リバーゼインヒビターの存在は知られており、また食品の劣化防止としても用いられている（例えば特開平3-219872号公報参照）。しかし現在までに知られているリバーゼインヒビターは、直接的にリバーゼと反応して阻害活性を示すものではなく、基質と会合することにより、阻害活性を示すものである。そのために多量のインヒビターが必要である。また *in vitro* (生体外での) 系において、リバーゼインヒビター効果を示すが、*in vivo* (生体の内部での) 系において、充分なリバーゼインヒビター効果を示さないものであつた。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明者らは、リバーゼと反応するリバーゼインヒビターを小麦種子中から得るべく検討を重ねた結果、この発明を完成した。

*

物質番号

N末端からのアミノ酸配列

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
LI-Ea-1-1	Arg-Ser-Ala-His-Glu-Pro-Gln-Pro								
LI-Ea-1-2	Arg-Ser-Ala-His-Glu-Pro-Gln-Gln-Pro								
LI-Ea-1-3	Arg-Ser-Ala-His-Glu-Gln-Gln-His								

LI-Ea-1-1

Arg-Ser-Ala-His-Glu-Pro-Gln-Pro

LI-Ea-1-2

Arg-Ser-Ala-His-Glu-Pro-Gln-Gln-Pro

LI-Ea-1-3

Arg-Ser-Ala-His-Glu-Gln-Gln-His

【0011】 次に60°C及び80°Cの加熱による安定性及びpHによる安定性の検討を行ない、図1及び図2にその結果を示した。60°C及び80°Cで60分間の加熱においても、リバーゼインヒビター活性が維持され、またpH 3から7の範囲で安定であつた。

*【0004】

【課題を解決するための手段】 すなわちこの発明は哺乳類由来リバーゼに特異的に作用する小麦由来蛋白質性新規リバーゼインヒビターに関するものであり、本物質により、生体の内部での系においても、少量で充分なリバーゼインヒビター効果を示すものである。

【0005】

【作用】 この発明においては、小麦種子から抽出された蛋白質のうち、哺乳類由来リバーゼと相互作用をなし、その酵素活性を直接的に阻害する物質を集め、そのものの分子量、等電点、N末端からの残基のアミノ酸配列及びKm値を決定した。さらに熱及びpH安定性、各種リバーゼに対する作用に関して検討を加えた。

【0006】

【実施例】 エタノール処理した小麦粉から抽出された蛋白質を、豚肺液由来リバーゼを固定化したリバーゼ・セファロローズ4Bカラムに吸着させ、0から1Mまでの塩化ナトリウムの直線的濃度勾配法により溶出させた。

0.7M濃度付近に、リバーゼインヒビター活性を示すピークが検出された。

【0007】 この部分の2次元電気泳動により、3つのリバーゼインヒビター活性を示すものが得られた。それぞれをLI-Ea-1-1、LI-Ea-1-2及びLI-Ea-1-3とし、これらの分子量及び等電点を表1に示した。

【0008】

【表1】

N o.	分子量	等電点(pI)
LI-Ea-1-1	25,000	7.1
LI-Ea-1-2	25,000	6.9
LI-Ea-1-3	28,000	6.7

【0009】 これらについて、N末端から残基までのアミノ酸配列を決定し、表2に示した。

【0010】

【表2】

N末端からのアミノ酸配列

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
LI-Ea-1-1	Arg-Ser-Ala-His-Glu-Pro-Gln-Pro								
LI-Ea-1-2	Arg-Ser-Ala-His-Glu-Pro-Gln-Gln-Pro								
LI-Ea-1-3	Arg-Ser-Ala-His-Glu-Gln-Gln-His								

【0012】 各種リバーゼに対する阻害効果を表3にまとめた。

【0013】

【表3】

3

リバーゼ	活性率
豚肺液由来	1293
<i>Candida cylindracea</i>	612
<i>Rhizopus arrhizus</i>	0
<i>Chromobacterium viscosum</i>	0
<i>Pseudomonas</i> sp.	0

なおリバーゼインヒビター活性は重量 (mg) 当りの活性で示した。

【0014】*Candida cylindracea*以外の微生物に対し
ては阻害活性は示さなかつた。哺乳類(豚肺液)由来
リバーゼに対しては、強い阻害活性を示した。この物質の
カイネティクスの検討を行なつたところ、 K_m は $1.229 \times 10^{-4} M$ であつた。

【0015】

【発明の効果】この発明に係る小麦由来リバーゼインヒ
ビターは、分子量、等電点、アミノ酸配列、哺乳類腸管
由来リバーゼを特異的に阻害すること、熱及びpH安定
性並びに K_m 値により、現在までに知られている蛋白質
性リバーゼインヒビターとは異なつた新規なリバーゼイ

10 ンヒビターである。更にこの発明の物質はリバーゼと直
接的に作用して、阻害活性を示すことから、生体外での
系並びに生体の内部での系においても、リバーゼ以外の
物質に作用を及ぼすことなく、少量で充分なりバーゼイ
ンヒビター活性を示すことができるものである。

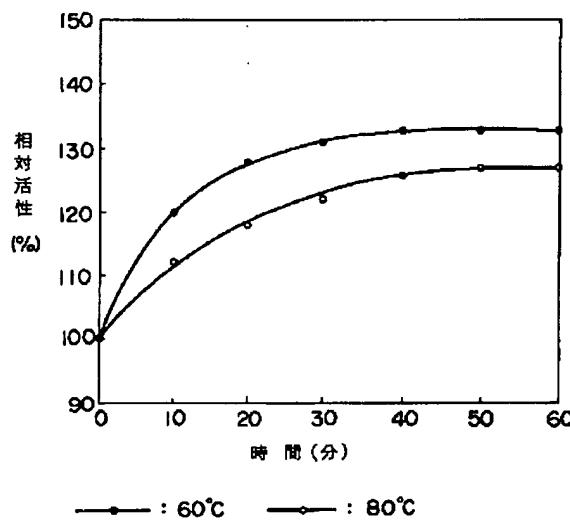
【図面の簡単な説明】

【図1】この発明の物質の60°C及び80°Cの加熱による安
定性を示すグラフである。

【図2】この発明の物質のpHによる安定性を示すグラ
フである。

20

【図1】



【図2】

